

# SWISS PATENT SPECIFICATION

641 356

Sandoz AG, Basle

(case 100-4983)

## Cyclosporin-containing galenic compositions

The invention relates to a pharmaceutical composition with improved capability of resorbing cyclosporins, which, apart from the cyclosporin, also contains

- a) transesterification products of triglycerides with polyalkylene glycols and/or
- b) a saturated fatty acid triglyceride and/or
- c) mono- or diglycerides

to improve resorption.

## PATENT CLAIMS

1. A pharmaceutical composition, containing a cyclosporin and a carrier, which consists of at least one of the components named below:

- a) a transesterification product of a triglyceride with a polyalkylene glycol
- b) a saturated fatty acid triglyceride and
- c) a mono- or diglyceride

whereby the cyclosporin may only be cyclosporin A if the composition is a drinking solution which contains a transesterification product of a triglyceride oleate with a polyethylene glycol as component a) and also olive oil or corn oil and ethanol.

2. A pharmaceutical composition according to claim 1, characterised in that the cyclosporin employed is cyclosporin A.

3. A pharmaceutical composition according to claim 1, characterised in that the cyclosporin employed is dihydrocyclosporin C and/or isocyclosporin D.

4. A pharmaceutical composition according to one of the preceding claims, characterised in that the pharmaceutical composition contains 0.2 to 10 parts of cyclosporin per 10 parts by weight of components a, b and c.

5. A pharmaceutical composition according to claim 1, characterised in that the components indicated under a) is a transesterification product of 2 molar portions of a triglyceride of a natural oil with 1 molar portion of polyethylene glycol having a molecular weight of 200 to 800.

6. A pharmaceutical composition according to claim 1, characterised in that the component indicated under b) contains fatty acids with a chain length of 8 to carbon atoms.

7. A pharmaceutical composition according to claim 1, characterised in that the component indicated under c) consists of a mono-fatty acid glyceride or di-fatty acid glyceride, wherein the fatty acid has 16 to 20 carbon atoms.

8. Process for the production of a pharmaceutical composition according to claim 1, characterised in that a cyclosporin is mixed with at least one of the following components:

- a) a transesterification product of a triglyceride with a polyalkylene glycol
- b) a saturated fatty acid triglyceride and
- c) a mono- or diglyceride

whereby the cyclosporin may only be cyclosporin A if a drinking solution is produced, which contains a transesterification product of a triglyceride oleate with a polyethylene glycol as component a) and also olive oil or corn oil and ethanol.

The present invention relates to new galenic forms of administration and compositions containing a cyclosporin.

Because of the hydrophobic and/or lipophilic character of such peptides, the pharmaceutical compositions thereof with conventional solid or liquid pharmaceutical carriers often has disadvantages. The cyclosporins are not satisfactorily resorbed from such compositions, or the compositions are not well tolerated, or they are insufficiently stable in storage, for example the cyclosporin may crystallise out, and/or the concentration of the cyclosporin, which may be brought to solution without crystallising, is low, for example in the order of 3% or less.

Problems of this kind arise not only with liquid formulations, but also with solid formulations, for example so-called solid solutions which are found in the form of pellets to be administered orally, which are obtained for example by melting a solid carrier, mixing it with the active ingredient and cooling the mixture.

Although many proposals for eliminating the above-depicted problems are known, after further investigation it was found that many of these proposals for cyclosporins, to which the present invention relates, cannot be employed.

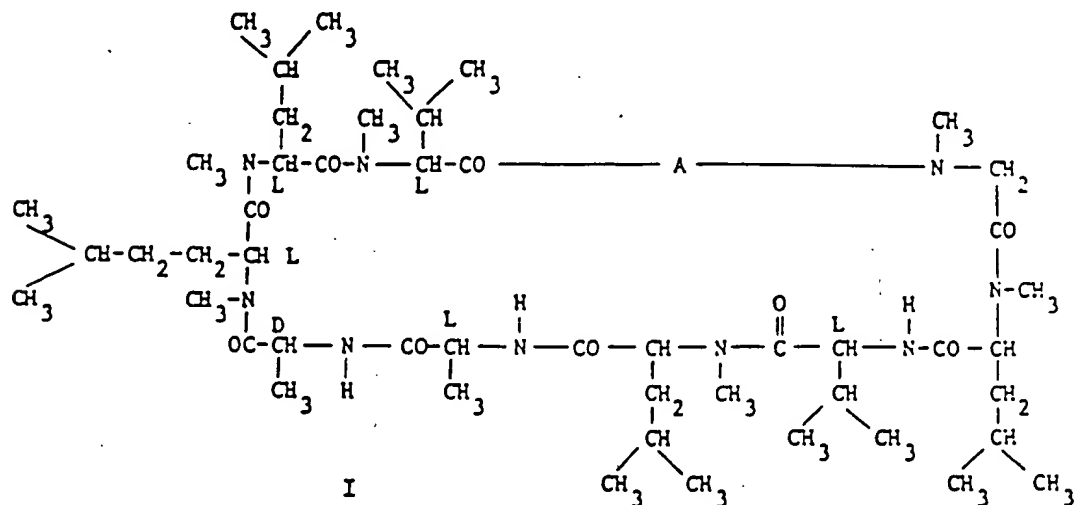
It has now surprisingly been found that the above-mentioned difficulties can be overcome with the assistance of certain glycerides or transesterification products of triglycerides. These compounds are suitable for greatly increasing resorption of the active ingredients and avoiding the problems of instability.

The present invention relates to a pharmaceutical composition, containing a cyclosporin and a carrier, which consists of at least one of the following components:

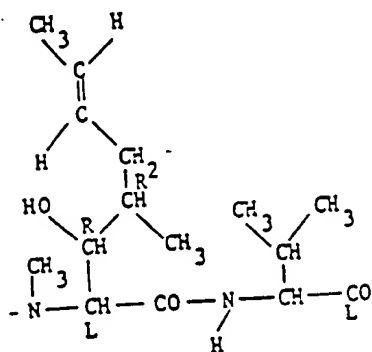
- a transesterification product of a triglyceride with a polyalkylene glycol
- a saturated fatty acid triglyceride and
- a mono- or diglyceride

whereby the cyclosporin may only be cyclosporin A if the composition is a drinking solution which contains a transesterification product of a triglyceride oleate with a polyethylene glycol as component a) and also olive oil or corn oil and ethanol.

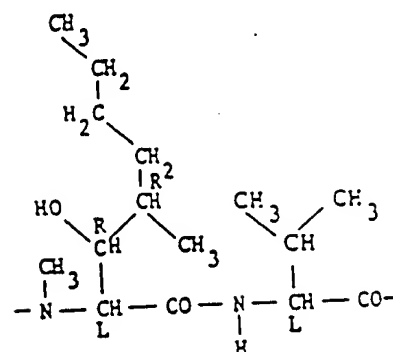
The pharmaceutical compositions according to the present invention are especially suitable for administering cyclosporins, whereby those whose ring structure has the following formula are preferred:



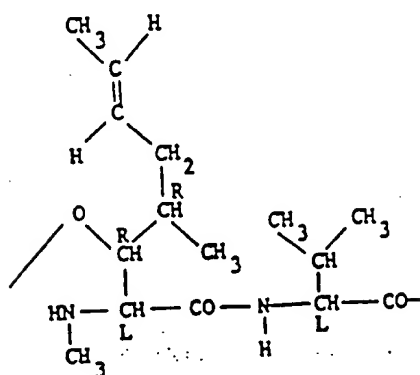
wherein A signifies a bivalent group which contains two amino acids joined together,  
for example



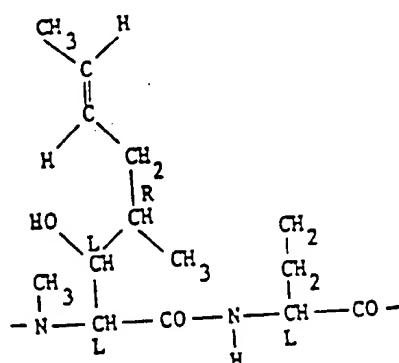
(cyclosporin D)



or (dihydro-cyclosporin D) or

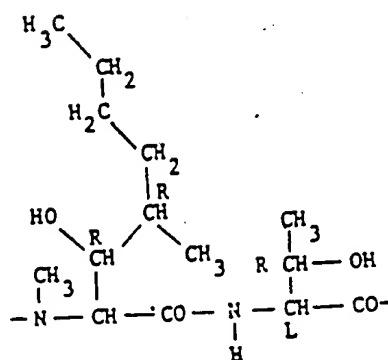


(iso-cyclosporin D)



or (cyclosporin A) or

(dihydro-cyclosporin C)



Cyclosporin A, dihydrocyclosporin C and isocyclosporin D are the preferred cyclosporins.

The transesterification products indicated under a) may be produced in a manner known *per se*, as described for example in US Patent No. 3.288.824. These products may be transesterification products of two molar portions of a triglyceride of a natural oil, such as corn oil, almond oil, peanut oil, olive oil and/or palm oil, with one molar portion of polyethylene glycol having a molecular weight of 200 to 800. Such products may be found commercially under the name LABRAFIL (see Fiedler,

Lexikon der Hilfsstoffe, page 320, 1971), and are manufactured for example by the Lab. Gattefosse, Boulogne sur Seine, France. The preferred products are obtained from unsaturated oil; preference is given for example to a transesterification product of a triglyceride oleate with a polyethylene glycol, which is found commercially under the name LABRAFIL M 1944 CS.

The fatty acid triglycerides indicated under b) are obtained in a manner known *per se*, using for example fatty acids with a chain length of 8 to 12 carbon atoms. In general, these glycerides have an iodine number of less than 2. Examples of such glycerides may be found commercially for example under the name MIGLYOL by Dynamit Nobel Wittem Ruhr, Germany, especially MIGLYOL 812, or MYRITOL 318 by Henkel Düsseldorf, Germany.

The mono- or diglycerides indicated under c) preferably consist of those which are admissible for pharmaceutical use, especially mono- or di-(C<sub>16</sub>-C<sub>20</sub>)-fatty acid glycerides, preferably stearic acid glycerides or in particular oleic acid glycerides.

Glycerol-mono-oleate (Monooleinum-Pharmacopoea Helvetica, 6th edition) is preferred.

If the components indicated under a), b) and/or c) exist in the solid state, they must be selected such that they melt at temperatures at which the cyclosporin is stable. Such components are for example glycerol monostearate and glycerol distearate.

The preferred total concentration of components a) and/or b) and/or c), which are present in the pharmaceutical compositions according to the present invention, as well as the weight ratio of the individual components where two or more of these are present, will depend *inter alia* on the components individually employed and in particular on their solubility effect, and also on the cyclosporin employed, the concentration of cyclosporin in the final composition and the solubility effect of each further pharmaceutical carrier that is present. In general, the preferred weight ratio of components a), b) and/or c) to the cyclosporin is 10 parts of component a), b) and c) to 0.2 to 10 parts of cyclosporin, especially 1 to 10 parts of cyclosporin and preferably 1 to 7 parts of cyclosporin.

If components a) and b) are present without component c), then the weight ratio of component a) to component b) should be from 1 - 1 : 1 - 2.

If component c) is present together with component a) or b), the weight ratio of component c) to component a) or b) should be from 2 - 1 : 1 - 2.

If components a), b) and c) are present together, their weight ratio should preferably be 1 : 1.

The pharmaceutical compositions according to the present invention may be obtained by mixing a cyclosporin with a liquid carrier, which contains components a) and/or b) and/or c) as described above. If components a), b) or c) are solid at room temperature, temperatures of up to ca. 70°C should be used in order to obtain a liquid melt in which the active ingredient may be dissolved. Afterwards, the compositions are cooled and subsequently ground for example.

The pharmaceutical compositions may be formulated in a manner known *per se*, if desired together with further pharmaceutically acceptable additives, and brought to forms appropriate for oral or parenteral administration. They are preferably found in liquid form.

Examples of preferred compositions are:

- a) drinking solutions, see following example 1,
- b) drinking emulsions,
- c) injection solutions,

- d) solutions in capsules,
- e) pellets for oral administration.

Administration is preferably intramuscular or subcutaneous or especially oral. If component b) is present, the pharmaceutical composition is preferably used parenterally.

The pharmaceutical compositions according to the present invention may be formulated with or without further carriers.

In particular, solubility-promoting additives and solvents may be present in concentrations of up to 60% of the total composition, in order to attain a satisfactory concentration of the peptide.

i) Ethanol may be used as a further solubility-promoting additive or solvent, especially if components a), b) or c) are in solid form. The proportion by weight of ethanol may be for example from 2 to 5% for parenteral compositions and 1 to 20% for compositions to be administered orally, respectively calculated on the total composition.

ii) Benzoic acid benzyl ester may be used as a further dissolving intermediary or solvent for compositions to be administered parenterally. It may be present in proportions of 5 to 40% by weight of the total composition.

iii) A vegetable oil, such as olive oil or corn oil, may be present as a pharmaceutical carrier both in oral and parenteral compositions. The proportion by weight of the vegetable oil may be for example from 35 to 60%, calculated on the total composition.

iv) For drinking emulsions, the components indicated under a) and/or c) are preferably used, whereby lecithin, such as soy lecithin, is simultaneously present. These emulsions may contain 20 to 80% water and ethanol as dissolving intermediary/-solvent.

v) For pellets to be administered orally, it is advantageous to use a solid or semi-solid component indicated under a), b) or c), but in particular a component indicated under c) is employed. Colloidal silicic acid, sugar and micro-crystalline cellulose are suitable additives.

The properties of the compositions obtained according to the present invention may be determined in a manner known *per se*. The stability of the solutions, especially towards crystallisation of the active ingredient, may be established using known tests. The tolerance of injection forms may be established by observing the extent of bleeding and inflammation following the injection, for example into the thighs of rabbits and rhesus monkeys, as well as the time taken for them to heal. In addition, other known tolerance tests may be used.

The absorption of the cyclosporin, especially the rapid commencement of a satisfactory concentration of cyclosporin in the blood and the high total absorption of cyclosporin during 24 hours, is established using standard tests.

In one test, a pharmaceutical composition according to the present invention is administered to rabbits, rats, dogs or rhesus monkeys orally, intramuscularly or subcutaneously in a dosage of 2-600 mg of cyclosporin per kg animal weight. Blood serum samples and urine samples are taken at regular time intervals, for example every hour, and the concentration of cyclosporin contained therein is established in a manner known *per se*.

The pharmacodynamic activity of the cyclosporin may be established in a manner known *per se*. In the case of cyclosporin A, the action of the peptide may be established by an inhibition of lymphocyte proliferation. To this end, the blood serum is

collected at regular time intervals after administering the substance, and added at a concentration of 0.3 to 10% in vitro to a spleen cell suspension of the mouse, wherein the lymphocyte proliferation is released by concanavalin A over a 72 hour cultivation period.  $^3\text{H}$ -thymidine is subsequently added and after 24 hours the thymidine incorporation is measured to establish lymphocyte proliferation.

If desired, the cyclosporin may be administered in radioactive form. For example, in one experiment, 100 mg of  $^3\text{H}$ -labelled cyclosporin A (produced by fermenting the known fungus strain *Tolypocladium inflatum* Gams NRRL 8044 in the presence of methionine labelled in the  $\text{SCH}_3$  group with tritium), which is in the form of a drinking solution, may be administered orally to male beagles. Blood samples are taken from each dog every 15 minutes after administration up to one hour after administration and subsequently every hour up to 8 hours after administration. The urine is also collected. Determination of the radioactivity in the blood and in the urine indicates the peptide absorption.

The amount of cyclosporin to be administered in the pharmaceutical composition according to the present invention depends of course on the type of administration, the desired effect and the treatment conditions.

In general, the proportion of cyclosporin administered with the assistance of the pharmaceutical composition according to the present invention will be in the same order as that of cyclosporin administered in another way.

The amounts required to attain therapeutical activity are known. If compositions according to the present invention are used, a daily dosage of 3 mg/kg to 50 mg/kg of cyclosporins should be administered to treat chronic inflammation and to attain an immuno-suppressive effect.

The following example describes the invention. All temperatures are given in degrees Celsius.

### Example 1

#### Drinking solution

200 mg of cyclosporin A are dissolved directly whilst stirring in 1 ml of a mixture of Labrafil M 1944 CS and ethanol (in a ratio of 40:15) at  $25^\circ$ , and after adding 0.4 ml of olive oil or corn oil, the solution obtained is filtered and filled into small bottles.

For every 10 parts by weight of Labrafil, the solution contains 3 parts by weight of cyclosporin A, 3 parts by weight of ethanol and 5 parts by weight of olive oil or corn oil.





CH 641 356 A5



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤ Int. Cl. 2: A 61 K 47/00  
A 61 K 37/02

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑪ 641 356

⑳ Gesuchsnummer: 1949/79

㉗ Inhaber:  
Sandoz AG, Basel

㉔ Anmeldungsdatum: 27.02.1979

㉔ Patent erteilt: 29.02.1984

㉔ Patentschrift  
veröffentlicht: 29.02.1984

㉗ Erfinder:  
Dr. Thomas Cavanak, Oberwil BL

㉔ Cyclosporin enthaltende galenische Kompositionen.

㉔ Die Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zusammensetzung mit verbessertem Resorptionsvermögen für Cyclosporine, die neben dem Cyclosporin zur Verbesserung der Resorption noch

- a) Transesterifikationsprodukte von Triglyzeriden mit Polyalkylenglykolen und/oder
  - b) ein gesättigtes Fettsäuretriglyzerid und/oder
  - c) Mono- oder Diglyzeride
- enthält.

## PATENTANSPRÜCHE

1. Eine pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend ein Cyclosporin und einen Trägerstoff, der aus zumindest einer der nachfolgend genannten Komponenten besteht:

- a) einem Transesterifikationsprodukt eines Triglycerids mit einem Polyalkylenglykol,
- b) einem gesättigten Fettsäuretriglycerid und
- c) einem Mono- oder Diglycerid,

wobei das Cyclosporin nur dann Cyclosporin A sein kann, wenn die Zusammensetzung eine Trinklösung ist, die ein Umesterungsprodukt eines Triglyceridoleats mit einem Polyäthylenglykol als Komponente a) und ferner Oliven- oder Maisöl und Äthanol enthält.

2. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man als Cyclosporin Cyclosporin A verwendet.

3. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man als Cyclosporin Dihydrocyclosporin C und/oder Isocyclosporin D verwendet.

4. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die pharmazeutische Zusammensetzung für 10 Gewichtsteile der Komponenten a, b, und c 0.2 bis 10 Teile des Cyclosporins enthält.

5. Eine pharmazeutische Zusammensetzung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die unter a) angege-

bene Komponente ein Transesterifikationsprodukt von 2 Molanteilen eines Triglycerids eines natürlichen Öles mit 1 Molanteil Polyäthylenglykol mit einem Molekulargewicht von 200 bis 800 ist.

6. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die unter b) angegebene Komponente Fettsäuren mit einer Kettenlänge von 8 bis Kohlenstoffatomen enthält.

7. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die unter c) angegebene Komponente aus einem Monofettsäure- oder Difettsäureglycerid, worin die Fettsäure 16 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, besteht.

8. Verfahren zur Herstellung einer pharmazeutischen Komposition nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Cyclosporin mit zumindest einer der nachfolgenden Komponenten vermischt:

- a) einem Transesterifikationsprodukt eines Triglycerids mit einem Polyalkylenglykol,
- b) einem gesättigten Fettsäuretriglycerid und
- c) einem Mono- und Diglycerid,

wobei man als Cyclosporin nur dann Cyclosporin A verwenden kann, wenn eine Trinklösung hergestellt wird, die ein Umesterungsprodukt eines Triglyceridoleats mit einem Polyäthylenglykol als Komponente a) und ferner Oliven- oder Maisöl und Äthanol enthält.

Die vorliegende Erfindung betrifft neue galenische Darreichungsformen und Kompositionen, enthaltend ein Cyclosporin.

Wegen des hydrophoben und/oder lipophilen Charakters solcher Peptide besitzen deren pharmazeutische Zusammensetzungen mit üblichen festen oder flüssigen pharmazeutischen Trägerstoffen oft Nachteile. So werden die Cyclosporine aus solchen Zusammensetzungen nicht zufriedenstellend resorbiert, oder die Zusammensetzungen werden nicht gut vertragen, oder sie sind bei der Lagerung nicht genügend stabil, beispielsweise gegen die Auskristallisation des Cyclosporins, und/oder die Konzentration des Cyclosporins, das ohne auszukristallisieren in Lösung gebracht werden kann, ist niedrig, beispielsweise in der Grössenordnung von 3% oder darunter.

Probleme dieser Art entstehen nicht nur mit flüssigen Formulierungen, sondern auch solchen, die fest sind, wie beispielsweise sog. festen Lösungen, die sich in Form von oral zu verabreichenden Pellets befinden, die beispielsweise durch Schmelzen eines festen Trägers, Vermischen mit dem Wirkstoff und Abkühlen des Gemisches erhalten werden.

Obwohl viele Vorschläge bekannt sind, die oben geschilderten Probleme zu beseitigen, wurde nach genauen Untersuchungen gefunden, dass viele dieser Vorschläge für Cyclo-

sporine, auf die sich die vorliegende Erfindung bezieht, nicht anwendbar sind.

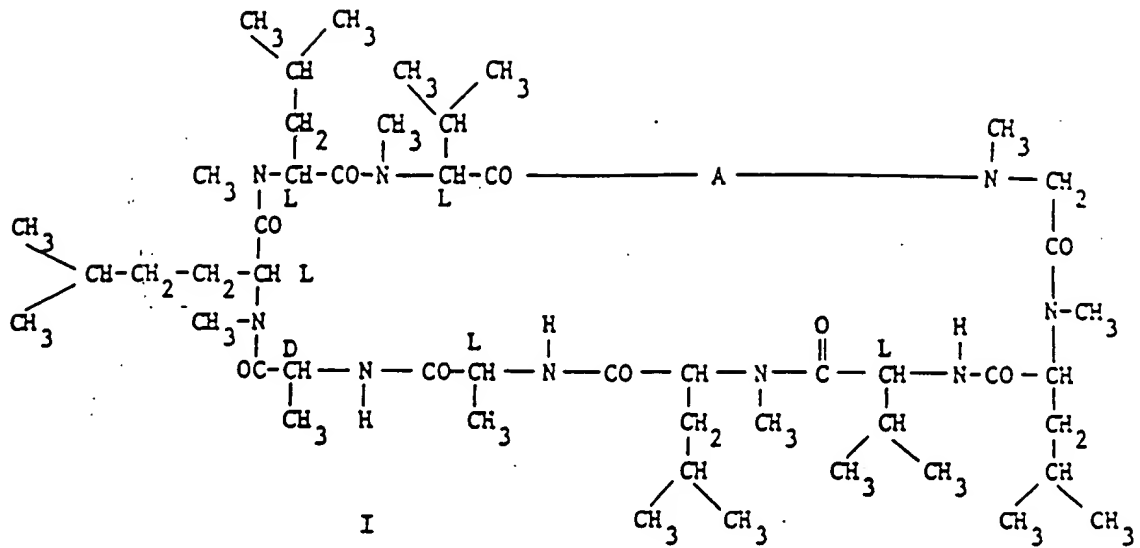
Es wurden nunmehr überraschenderweise gefunden, dass mit Hilfe bestimmter Glyceride bzw. Transesterifikationsprodukte von Triglyceriden die vorgenannten Schwierigkeiten überwunden werden können. Diese Verbindungen sind geeignet, die Resorption der Wirkstoffe stark zu erhöhen und die Probleme der Instabilität zu vermeiden.

Die vorliegende Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend ein Cyclosporin und Trägerstoffe, die aus zumindest einer der nachfolgenden Komponenten besteht:

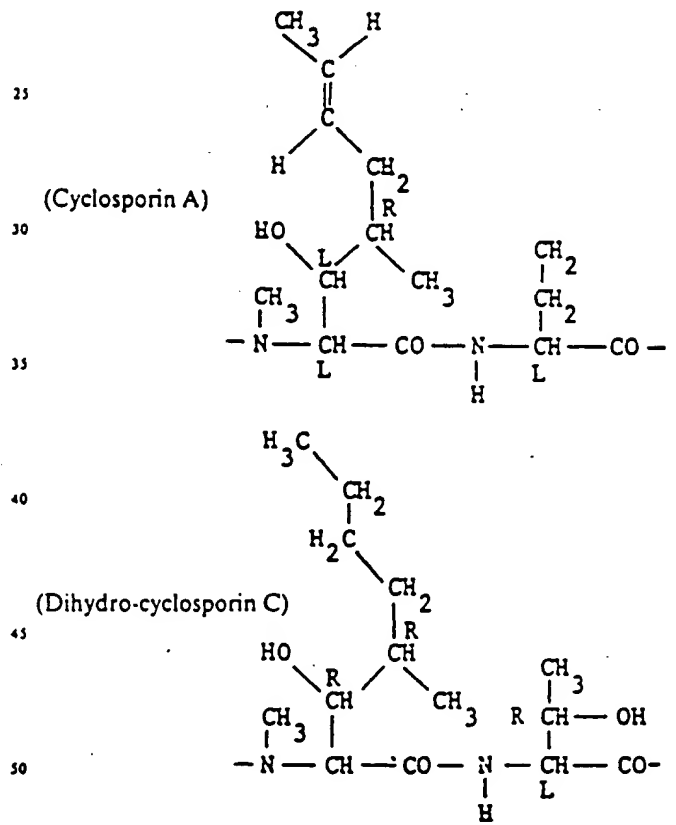
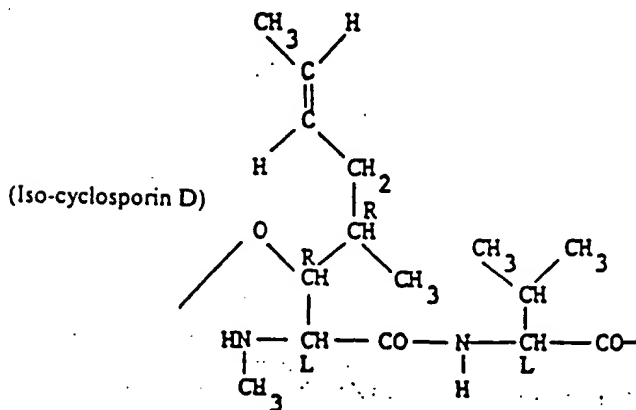
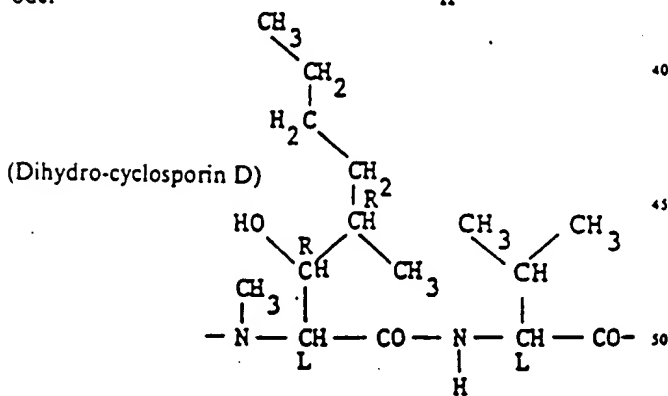
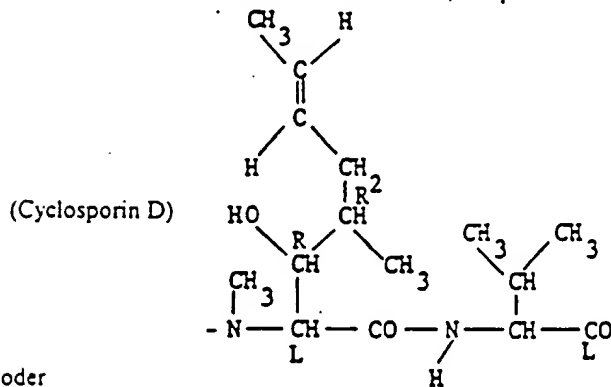
- a) einem Transesterifikationsprodukt eines Triglycerids mit einem Polyalkylenglykol,
- b) einem gesättigten Fettsäuretriglycerid und
- c) einem Mono- oder Diglycerid,

wobei das Cyclosporin nur dann Cyclosporin A sein kann, wenn die Zusammensetzung eine Trinklösung ist, die ein Umesterungsprodukt eines Triglyceridoleats mit einem Polyäthylenglykol als Komponente a) und ferner Oliven- oder Maisöl und Äthanol enthält.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen gemäss der vorliegenden Erfindung sind insbesondere geeignet zur Verabreichung von Cyclosporinen, wobei diejenigen, deren Ringgerüst folgende Formel besitzt, bevorzugt werden:



worin A eine zweiwertige Gruppe bedeutet, die zwei miteinander verbundene Aminosäuren enthält, beispielsweise



Cyclosporin A, Dihydrocyclosporin C und Isocyclosporin D sind die bevorzugten Cyclosporine.

Die unter a) angegebenen Transesterifikationsprodukte können auf an sich bekannte Weise, wie beispielsweise im US-Patent Nr. 3 288 824 beschrieben, hergestellt werden. Diese Produkte können Transesterifikationsprodukte zweier Molanteile eines Triglycerids eines natürlichen Öles, wie Maisöl, Mandelöl, Erdnussöl, Olivenöl und/oder Palmöl, mit einem Molanteil Polyäthylenglykol mit einem Molekulargewicht von 200 bis 800 sein. Solche Produkte befinden sich unter dem Namen LABRAFIL (siehe Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe Seiten 320, 1971) im Handel und werden beispielsweise vom Lab. Gattefosse, Boulogne sur Seine, Frankreich, hergestellt. Die bevorzugten Produkte erhält man aus ungesättigtem Öl; bevorzugt ist beispielsweise ein

Umesterungsprodukt eines Triglyzeridoleates mit einem Polyäthylenglykol, das sich unter dem Namen LABRAFIL M 1944 CS im Handel befindet.

Die unter b) angegebenen Fettsäuretriglyzeride erhält man auf an sich bekannte Weise unter Verwendung von beispielsweise Fettsäuren mit einer Kettenlänge von 8 bis 12 Kohlenstoffatomen. Im allgemeinen haben diese Glyzeride eine Jodzahl von weniger als 2. Beispiele solcher Glyzeride finden sich im Handel beispielsweise unter dem Namen MIGLYOL von Dynamit Nobel Wittern Ruhr, BRD, insbesondere MIGLYOL 812, oder MYRITOL 318 von Henkel Düsseldorf, BRD.

Die unter c) angegebenen Mono- oder Diglyzeride bestehen vorzugsweise aus denjenigen, die für eine pharmazeutische Verwendung zugelassen sind, insbesondere Mono- oder Di-(C<sub>16</sub>-C<sub>20</sub>)-Fettsäureglyzeride, vorzugsweise Stearinsäure- oder insbesondere Oleinsäureglyzeride.

Bevorzugt wird Glycerol-mono-oleat (Monoleinum Pharmacopoea Helvetica, 6. Ausgabe).

Falls die unter a), b) und/oder c) angegebenen Komponenten sich im festen Zustand befinden, so müssen diese so ausgewählt werden, dass sie bei Temperaturen schmelzen, bei denen das Cyclosporin stabil ist. Solche Komponenten sind beispielsweise Glycerin-monostearat und Glycerin-distearat.

Die bevorzugte Gesamtkonzentration der Komponenten a) und/oder b) und/oder c), die in den pharmazeutischen Zusammensetzungen gemäss der vorliegenden Erfindung anwesend sind, sowie das Gewichtsverhältnis der einzelnen Komponenten, falls zwei oder mehr von diesen anwesend sind, wird u. a. von den im einzelnen verwendeten Komponenten und insbesondere von ihrem Löslichkeitseffekt und auch von dem verwendeten Cyclosporin, der Konzentration des Cyclosporins in der endgültigen Zusammensetzung und dem Löslichkeitseffekt jedes weiteren anwesenden pharmazeutischen Trägerstoffes abhängen. Im allgemeinen beträgt das bevorzugte Gewichtsverhältnis der Komponenten a), b) und/oder c) zum Cyclosporin wie 10 Teile der Komponenten a), b), und c) zu 0,2 bis 10 Teilen des Cyclosporins, insbesondere 1 zu 10 Teilen des Cyclosporins und bevorzugt 1 bis 7 Teilen des Cyclosporins.

Falls die Komponenten a) und b) anwesend sind ohne die Komponente c), dann soll das Gewichtsverhältnis der Komponente a) zur Komponente b) von 1 zu 1 bis 1 zu 2 betragen.

Falls die Komponente c) zusammen mit der Komponente a) oder b) anwesend ist, so soll das Gewichtsverhältnis der Komponente c) zur Komponente a) oder b) von 2 zu 1 bis 1 zu 2 betragen.

Falls die Komponenten a), b) und c) gemeinsam anwesend sind, so soll ihr Gewichtsverhältnis vorzugsweise 1 zu 1 zu 1 betragen.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen gemäss der vorliegenden Erfindung können erhalten werden durch Vermischung eines Cyclosporins mit einem flüssigen Trägerstoff, der die Komponenten a) und/oder b) und/oder c) wie oben beschrieben umfasst. Falls die Komponenten a), b) oder c) bei Raumtemperatur fest sind, so sollen hierbei Temperaturen bis ca. 70 °C angewendet werden, um eine flüssige Schmelze zu erhalten, in der der Wirkstoff gelöst werden kann. Danach werden die Zusammensetzungen abgekühlt und anschliessend beispielsweise vermahlen.

Die pharmazeutischen Kompositionen können auf an sich bekannte Weise gewünschtenfalls zusammen mit weiteren pharmazeutischen unbedenklichen Zusätzen formuliert und in für orale oder parenterale Verabreichung geeignete Formen gebracht werden. Vorzugsweise befinden sie sich in flüssiger Form.

Beispiele bevorzugter Zusammensetzungen sind:

- a) Trinklösungen, siehe nachfolgendes Beispiel 1.
- b) Trinkemulsionen.
- c) Injektionslösungen.
- d) in Kapseln befindliche Lösungen.
- e) Pellets für orale Verabreichung.

Die Verabreichung erfolgt vorzugsweise intramuskulär oder subcutan oder insbesondere oral. Falls die Komponente b) anwesend ist, wird die pharmazeutische Zusammensetzung vorzugsweise parenteral angewendet.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen gemäss der vorliegenden Erfindung können mit oder ohne weitere Trägerstoffe formuliert werden.

Insbesondere können löslichkeitsfördernde Zusätze und Lösungsmittel in Konzentrationen bis 60% der Gesamtkomposition anwesend sein, um eine zufriedenstellende Konzentration des Peptids zu erreichen.

i) Äthanol kann als weiterer löslichkeitsfördernder Zusatz bzw. Lösungsmittel verwendet werden, insbesondere wenn sich die Komponenten a), b) oder c) in fester Form befinden. Der Gewichtsanteil von Äthanol kann beispielsweise von 2 bis 5% für parenterale Zusammensetzungen und 1 bis 20% für oral zu verabreichende Zusammensetzungen, jeweils berechnet auf die gesamte Zusammensetzung, betragen.

ii) Für parenteral zu verabreichende Zusammensetzungen kann als weiterer Lösungsvermittler bzw. Lösungsmittel Benzoesäurebenzylester verwendet werden. Dieses kann in Anteilen von 5 bis 40 Gew.-% der Gesamtkomposition anwesend sein.

iii) Ein pflanzliches Öl, wie Olivenöl oder Maisöl, kann sowohl in oralen als auch parenteralen Zusammensetzungen als pharmazeutischer Träger anwesend sein. Der Gewichtsanteil des pflanzlichen Öls kann beispielsweise von 35 bis 60%, berechnet nach der Gesamtkomposition, betragen.

iv) Für Trinkemulsionen werden vorzugsweise die unter a) und/oder c) angegebenen Komponenten verwendet, wobei gleichzeitig Lecithin wie Sojalecithin anwesend ist. Diese Emulsionen können von 20 bis 80 Gew.-% Wasser und Äthanol als Lösungsvermittler/Lösungsmittel enthalten.

v) Für oral zu verabreichende Pellets ist es vorteilhaft, eine feste oder halbfeste unter a), b) oder c) angegebene Komponente zu verwenden, insbesondere wird jedoch eine unter c) angegebene Komponente gebraucht. Kolloidale Kieselsäure, Zucker und mikrokristalline Zellulose sind geeignete Zusätze.

Die Eigenschaften der gemäss der vorliegenden Erfindung erhaltenen Zusammensetzung können auf an sich bekannte Weise bestimmt werden. Die Stabilität der Lösungen, insbesondere gegen Auskristallisation des Wirkstoffes, kann unter Verwendung bekannter Tests festgestellt werden. Die Verträglichkeit der Injektionsformen kann durch Beobachtung des Ausmasses der Blutung und der Entzündung nach der Injektion, beispielsweise in die Schenkel von Kaninchen und Rhesusaffen, sowie der Zeit, die benötigt wird, um diese zu heilen, festgestellt werden. Überdies können andere bekannte Verträglichkeitstests angewendet werden.

Die Absorption des Cyclosporins, insbesondere der rasche Eintritt einer zufriedenstellenden Konzentration des Cyclosporins im Blut und die hohe totale Absorption des Cyclosporins während 24 Stunden, wird unter Verwendung von Standard-Tests festgestellt.

In einem Test wird eine pharmazeutische Zusammensetzung gemäss der vorliegenden Erfindung Kaninchen, Ratten, Hunden oder Rhesusaffen oral, intramuskulär oder subcutan in einer Dosis von 2-600 mg des Cyclosporins pro kg Tiergewicht verabreicht. Blutserumproben und Urinproben werden in gleichmässigen Zeitabständen entnommen, bei-

spielsweise jede Stunde, und die darin enthaltene Cyclosporinkonzentration wird auf an sich bekannte Weise festgestellt.

Die pharmakodynamische Aktivität des Cyclosporins kann auf an sich bekannte Weise festgestellt werden. Im Falle von Cyclosporin A kann die Wirkung des Peptids durch Hemmung der Lymphozytenproliferation festgestellt werden. Hierfür wird das Blutserum in regelmässigen Zeitabständen nach Verabreichung der Substanz gesammelt und in einer Konzentration von 0,3 bis 10% in vitro einer Milzzellensuspension der Maus zugesetzt, worin die Lymphozytenproliferation durch Concanavallin A über eine 72stündige Kultivierungsperiode ausgelöst wird. <sup>3</sup>H-Thymidin wird anschliessend zugesetzt und nach 24 Stunden der Thymidineinbau zur Feststellung der Lymphozytenproliferation gemessen.

Falls erwünscht, kann das Cyclosporin in radioaktiver Form verabreicht werden. Beispielsweise können in einem Experiment 100 mg <sup>3</sup>H-markiertes Cyclosporin A (hergestellt durch Fermentierung des bekannten Pilzstammes *Tolypocladium inflatum* Gams NRRL 8044 in Gegenwart von in der SCH<sub>3</sub>-Gruppe mit Tritium markiertem Methionin), das sich in Form einer Trinklösung befindet, männlichen Beagle-Hunden oral verabreicht werden. Blutproben werden jedem Hund 15 Minuten nach Verabreichung bis zu einer Stunde nach Verabreichung entnommen und anschliessend jede Stunde bis zu 8 Stunden nach Verabreichung. Der Urin wird ebenfalls gesammelt. Die Bestimmung der Radioaktivität im Blut und im Urin gibt die Pepsidabsorption an.

Die Menge des in der pharmazeutischen Zusammensetzung gemäss der vorliegenden Erfindung zu verabreichenden Cyclosporins hängt natürlich von der Art der Verabreichung, dem gewünschten Effekt und den Behandlungsbedingungen ab.

Im allgemeinen wird der Anteil des mit Hilfe der pharmazeutischen Zusammensetzung gemäss der vorliegenden Erfindung verabreichten Cyclosporins in der gleichen Größenordnung sein wie des auf einem anderen Weg verabreichten Cyclosporins.

Die zur Erreichung einer therapeutischen Wirkung benötigten Mengen sind bekannt. Falls man Zusammensetzungen gemäss der vorliegenden Erfindung verwendet, soll eine tägliche Dosis von 3 mg/kg bis 50 mg/kg an Cyclosporinen zur Behandlung chronischer Entzündungen und zur Erzielung eines immunosuppressiven Effektes verabreicht werden.

Das nachfolgende Beispiel beschreibt die Erfindung. Alle Temperaturangaben sind in Grad-Celsius angegeben.

#### Beispiel I Trinklösung

200 mg Cyclosporin A werden direkt unter Rühren in 1 ml Gemisch von Labrafil M 1944 CS und Äthanol (im Verhältnis 40 : 15) bei 25° gelöst und nach Zusatz von 0,4 ml Olivenöl oder Maisöl die erhaltene Lösung filtriert und in Fläschchen abgefüllt.

Die Lösung enthält für 10 Gewichtsteile Labrafil 3 Gewichtsteile Cyclosporin A, 3 Gewichtsteile Äthanol und 5 Gewichtsteile Oliven- oder Maisöl.

***This Page Blank (uspto)***

CH 641 356 A5



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT  
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(51) Int. Cl. 2: A 61 K 47/00  
A 61 K 37/02

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein  
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) PATENTSCHRIFT A5

(11)

641 356

(21) Gesuchsnummer: 1949/79

(73) Inhaber:  
Sandoz AG, Basel

(22) Anmeldungsdatum: 27.02.1979

(24) Patent erteilt: 29.02.1984

(45) Patentschrift  
veröffentlicht: 29.02.1984

(72) Erfinder:  
Dr. Thomas Cavanak, Oberwil BL

(54) Cyclosporin enthaltende galenische Kompositionen.

(57) Die Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zusammensetzung mit verbessertem Resorptionsvermögen für Cyclosporine, die neben dem Cyclosporin zur Verbesserung der Resorption noch

- a) Transesterifikationsprodukte von Triglyzeriden mit Polyalkylenglykolen und/oder
  - b) ein gesättigtes Fettsäuretriglyzerid und/oder
  - c) Mono- oder Diglyzeride
- enthält.

*This Page Blank (uspto)*



## PATENTANSPRÜCHE

1. Eine pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend ein Cyclosporin und einen Trägerstoff, der aus zumindest einer der nachfolgend genannten Komponenten besteht:

- a) einem Transesterifikationsprodukt eines Triglycerids mit einem Polyalkylenglykol,
  - b) einem gesättigten Fettsäuretriglycerid und
  - c) einem Mono- oder Diglycerid,
- wobei das Cyclosporin nur dann Cyclosporin A sein kann, wenn die Zusammensetzung eine Trinklösung ist, die ein Umesterungsprodukt eines Triglyceridoleates mit einem Polyäthylenglykol als Komponente a) und ferner Oliven- oder Maisöl und Äthanol enthält.

2. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man als Cyclosporin Cyclosporin A verwendet.

3. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man als Cyclosporin Dihydrocyclosporin C und/oder Isocyclosporin D verwendet.

4. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die pharmazeutische Zusammensetzung für 10 Gewichtsteile der Komponenten a, b, und c 0,2 bis 10 Teile des Cyclosporins enthält.

5. Eine pharmazeutische Zusammensetzung gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die unter a) angege-

bene Komponente ein Transesterifikationsprodukt von 2 Molanteilen eines Triglycerids eines natürlichen Öles mit 1 Molanteil Polyäthylenglykol mit einem Molekulargewicht von 200 bis 800 ist.

6. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die unter b) angegebene Komponente Fettsäuren mit einer Kettenlänge von 8 bis Kohlenstoffatomen enthält.

7. Eine pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die unter c) angegebene Komponente aus einem Monofettsäure- oder Difettsäureglycerid, worin die Fettsäure 16 bis 20 Kohlenstoffatome besitzt, besteht.

8. Verfahren zur Herstellung einer pharmazeutischen Komposition nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man ein Cyclosporin mit zumindest einer der nachfolgenden Komponenten vermischt:

- a) einem Transesterifikationsprodukt eines Triglycerids mit einem Polyalkylenglykol,
  - b) einem gesättigten Fettsäuretriglycerid und
  - c) einem Mono- und Diglycerid,
- wobei man als Cyclosporin nur dann Cyclosporin A verwenden kann, wenn eine Trinklösung hergestellt wird, die ein Umesterungsprodukt eines Triglyceridoleates mit einem Polyäthylenglykol als Komponente a) und ferner Oliven-, oder Maisöl und Äthanol enthält.

Die vorliegende Erfindung betrifft neue galenische Darreichungsformen und Kompositionen, enthaltend ein Cyclosporin.

Wegen des hydrophoben und/oder lipophilen Charakters solcher Peptide besitzen deren pharmazeutische Zusammensetzungen mit üblichen festen oder flüssigen pharmazeutischen Trägerstoffen oft Nachteile. So werden die Cyclosporine aus solchen Zusammensetzungen nicht zufriedenstellend resorbiert, oder die Zusammensetzungen werden nicht gut vertragen, oder sie sind bei der Lagerung nicht genügend stabil, beispielsweise gegen die Auskristallisation des Cyclosporins, und/oder die Konzentration des Cyclosporins, das ohne auszukristallisieren in Lösung gebracht werden kann, ist niedrig, beispielsweise in der Grössenordnung von 3% oder darunter.

Probleme dieser Art entstehen nicht nur mit flüssigen Formulierungen, sondern auch solchen, die fest sind, wie beispielsweise sog. festen Lösungen, die sich in Form von oral zu verabreichenden Pellets befinden, die beispielsweise durch Schmelzen eines festen Trägers, Vermischen mit dem Wirkstoff und Abkühlen des Gemisches erhalten werden.

Gewohl viele Vorschläge bekannt sind, die oben geschilderten Probleme zu beseitigen, wurde nach genauen Untersuchungen gefunden, dass viele dieser Vorschläge für Cyclo-

sporine, auf die sich die vorliegende Erfindung bezieht, nicht anwendbar sind.

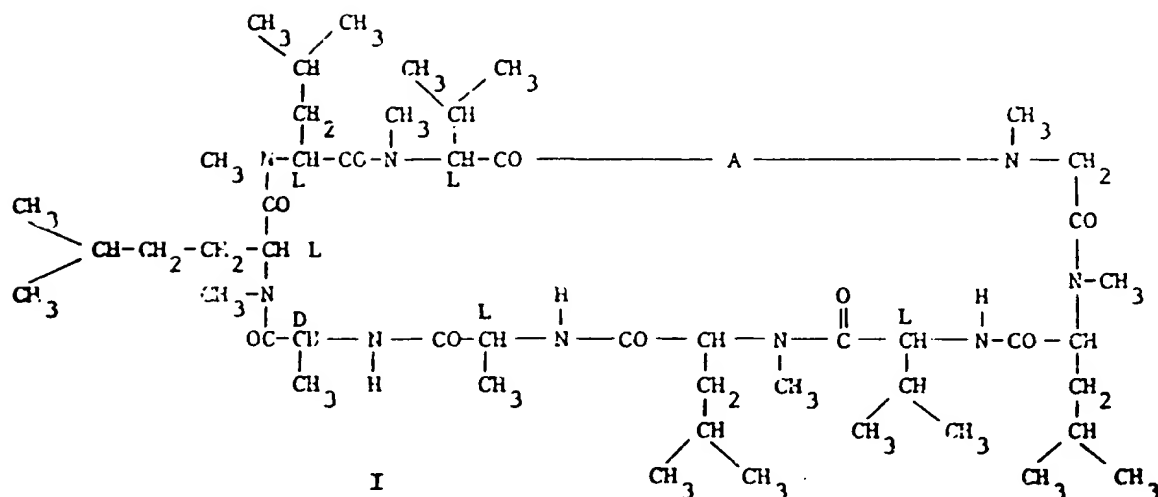
Es wurden nunmehr überraschenderweise gefunden, dass mit Hilfe bestimmter Glyceride bzw. Transesterifikationsprodukte von Triglyceriden die vorgenannten Schwierigkeiten überwunden werden können. Diese Verbindungen sind geeignet, die Resorption der Wirkstoffe stark zu erhöhen und die Probleme der Instabilität zu vermeiden.

Die vorliegende Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend ein Cyclosporin und Trägerstoffe, die aus zumindest einer der nachfolgenden Komponenten besteht:

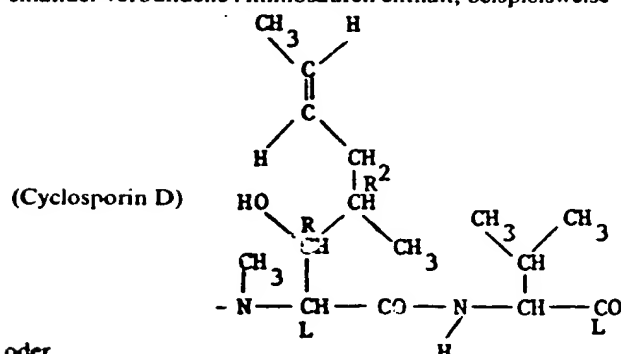
- a) einem Transesterifikationsprodukt eines Triglycerids mit einem Polyalkylenglykol,
  - b) einem gesättigten Fettsäuretriglycerid und
  - c) einem Mono- oder Diglycerid,
- wobei das Cyclosporin nur dann Cyclosporin A sein kann, wenn die Zusammensetzung eine Trinklösung ist, die ein Umesterungsprodukt eines Triglyceridoleates mit einem Polyäthylenglykol als Komponente a) und ferner Oliven- oder Maisöl und Äthanol enthält.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen gemäss der vorliegenden Erfindung sind insbesondere geeignet zur Verabreichung von Cyclosporinen, wobei diejenigen, deren Ringgerüst folgende Formel besitzt, bevorzugt werden:

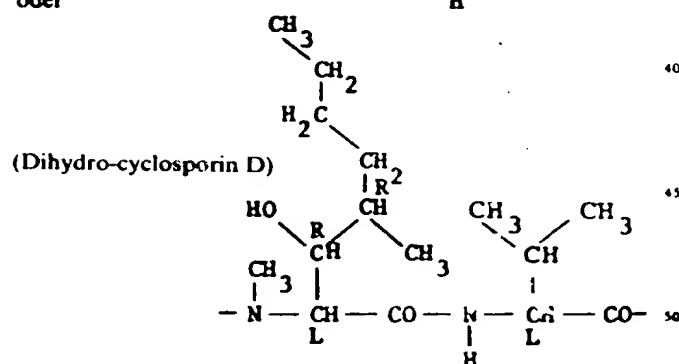
*This Page Blank (uspto)*



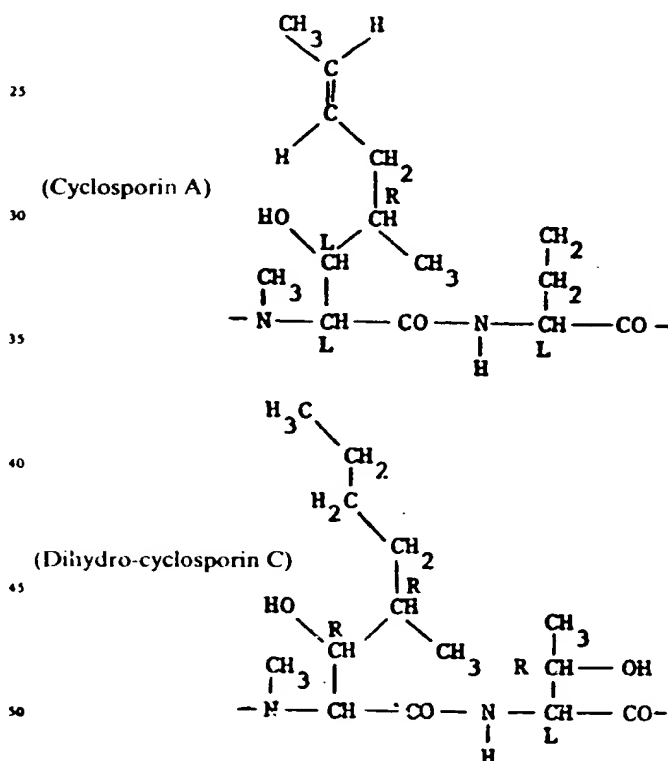
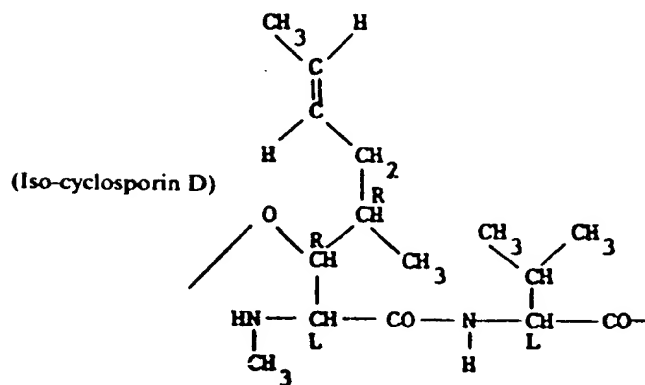
vorin A eine zweiwertige Gruppe bedeutet, die zwei miteinander verbundene Aminosäuren enthält, beispielsweise



oder



oder



Cyclosporin A, Dihydrocyclosporin C und Isocyclosporin D sind die bevorzugten Cyclosporine.

Die unter a) angegebenen Transesterifikationsprodukte können auf an sich bekannte Weise, wie beispielsweise im US-Patent Nr. 3 288 824 beschrieben, hergestellt werden. Diese Produkte können Transesterifikationsprodukte zweier Molanteile eines Triglycerids eines natürlichen Öles, wie Maisöl, Mandelöl, Erdnussöl, Olivenöl und/oder Palmöl, mit einem Molanteil Polyäthylenglykol mit einem Molekulargewicht von 200 bis 800 sein. Solche Produkte befinden sich unter dem Namen LABRAFIL (siehe Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe Seiten 320, 1971) im Handel und werden beispielsweise vom Lab. Gattefosse, Boulogne sur Seine, Frankreich, hergestellt. Die bevorzugten Produkte erhält man aus ungesättigtem Öl; bevorzugt ist beispielsweise ein

*This Page Blank (uspto)*

Umesterungsprodukt eines Triglyzeridoleates mit einem Polyäthylenglykol, das sich unter dem Namen LABRAFIL M 1944 CS im Handel befindet.

Die unter b) angegebenen Fettsäuretriglyzeride erhält man auf an sich bekannte Weise unter Verwendung von beispielsweise Fettsäuren mit einer Kettenlänge von 8 bis 12 Kohlenstoffatomen. Im allgemeinen haben diese Glyzeride eine Jodzahl von weniger als 2. Beispiele solcher Glyzeride finden sich im Handel beispielsweise unter dem Namen MIGLYOL von Dynamit Nobel Witten Ruhr, BRD, insbesondere MIGLYOL 812, oder MYRITOL 318 von Henkel Düsseldorf, BRD.

Die unter c) angegebenen Mono- oder Diglyzeride bestehen vorzugsweise aus denjenigen, die für eine pharmazeutische Verwendung zugelassen sind, insbesondere Mono- oder Di-(C<sub>16</sub>-C<sub>20</sub>)-Fettsäureglyzeride, vorzugsweise Stearinsäure- oder insbesondere Oleinsäureglyzeride.

Bevorzugt wird Glycerol-mono-oleat (Monooleum-Pharmacopoea Helvetica, 6. Ausgabe).

Falls die unter a), b) und/oder c) angegebenen Komponenten sich im festen Zustand befinden, so müssen diese so ausgewählt werden, dass sie bei Temperaturen schmelzen, bei denen das Cyclosporin stabil ist. Solche Komponenten sind beispielsweise Glycerin-monostearat und Glycerin-distearat.

Die bevorzugte Gesamtkonzentration der Komponenten a) und/oder b) und/oder c), die in den pharmazeutischen Zusammensetzungen gemäss der vorliegenden Erfindung anwesend sind, sowie das Gewichtsverhältnis der einzelnen Komponenten, falls zwei oder mehr von diesen anwesend sind, wird u. a. von den im einzelnen verwendeten Komponenten und insbesondere von ihrem Löslichkeitseffekt und auch von dem verwendeten Cyclosporin, der Konzentration des Cyclosporins in der endgültigen Zusammensetzung und dem Löslichkeitseffekt jedes weiteren anwesenden pharmazeutischen Trägerstoffes abhängen. Im allgemeinen beträgt das bevorzugte Gewichtsverhältnis der Komponenten a), b) und/oder c) zum Cyclosporin wie 10 Teile der Komponenten a), b), und c) zu 0,2 bis 10 Teilen des Cyclosporins, insbesondere 1 zu 10 Teilen des Cyclosporins und bevorzugt 1 bis 7 Teilen des Cyclosporins.

Falls die Komponenten a) und b) anwesend sind ohne die Komponente c), dann soll das Gewichtsverhältnis der Komponente a) zur Komponente b) von 1 zu 1 bis 1 zu 2 betragen.

Falls die Komponente c) zusammen mit der Komponente a) oder b) anwesend ist, so soll das Gewichtsverhältnis der Komponente c) zur Komponente a) oder b) von 2 zu 1 bis 1 zu 2 betragen.

Falls die Komponenten a), b) und c) gemeinsam anwesend sind, so soll ihr Gewichtsverhältnis vorzugsweise 1 zu 1 zu 1 betragen.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen gemäss der vorliegenden Erfindung können erhalten werden durch Vermischung eines Cyclosporins mit einem flüssigen Trägerstoff, der die Komponenten a) und/oder b) und/oder c) wie oben beschrieben umfasst. Falls die Komponenten a), b) oder c) bei Raumtemperatur fest sind, so sollen hierbei Temperaturen bis ca. 70 °C angewendet werden, um eine flüssige Schmelze zu erhalten, in der der Wirkstoff gelöst werden kann. Danach werden die Zusammensetzungen abgekühlt und anschliessend beispielsweise vermahlen.

Die pharmazeutischen Kompositionen können auf an sich bekannte Weise gewünschtenfalls zusammen mit weiteren pharmazeutischen unbedenklichen Zusätzen formuliert und in für orale oder parenterale Verabreichung geeignete Formen gebracht werden. Vorzugsweise befinden sie sich in flüssiger Form.

Beispiele bevorzugter Zusammensetzungen sind:

- a) Trinklösungen, siehe nachfolgendes Beispiel 1,
- b) Trinkemulsionen,
- c) Injektionslösungen,
- d) in Kapiteln befindliche Lösungen,
- e) Pellets für orale Verabreichung.

Die Verabreichung erfolgt vorzugsweise intramuskulär oder subcutan oder insbesondere oral. Falls die Komponente b) anwesend ist, wird die pharmazeutische Zusammensetzung vorzugsweise parenteral angewendet.

Die pharmazeutischen Zusammensetzungen gemäss der vorliegenden Erfindung können mit oder ohne weitere Trägerstoffe formuliert werden.

Insbesondere können löslichkeitsfördernde Zusätze und Lösungsmittel in Konzentrationen bis 60% der Gesamtkomposition anwesend sein, um eine zufriedenstellende Konzentration des Peptids zu erreichen.

i) Äthanol kann als weiterer löslichkeitsfördernder Zusatz bzw. Lösungsmittel verwendet werden, insbesondere wenn sich die Komponenten a), b) oder c) in fester Form befinden. Der Gewichtsanteil von Äthanol kann beispielsweise von 2 bis 5% für parenterale Zusammensetzungen und 1 bis 20% für oral zu verabreichende Zusammensetzungen, jeweils berechnet auf die gesamte Zusammensetzung, betragen.

ii) Für parenteral zu verabreichende Zusammensetzungen kann als weiterer Lösungsvermittler bzw. Lösungsmittel Benzoesäurebenzylester verwendet werden. Dieses kann in Anteilen von 5 bis 40 Gew.-% der Gesamtkomposition anwesend sein.

iii) Ein pflanzliches Öl, wie Olivenöl oder Maisöl, kann sowohl in oralen als auch parenteralen Zusammensetzungen als pharmazeutischer Träger anwesend sein. Der Gewichtsanteil des pflanzlichen Öls kann beispielsweise von 35 bis 60%, berechnet nach der Gesamtkomposition, betragen.

iv) Für Trinkemulsionen werden vorzugsweise die unter a) und/oder c) angegebenen Komponenten verwendet, wobei gleichzeitig Lecithin wie Sojalecithin anwesend ist. Diese Emulsionen können von 20 bis 80 Gew.-% Wasser und Äthanol als Lösungsvermittler/Lösungsmittel enthalten.

v) Für oral zu verabreichende Pellets ist es vorteilhaft, eine feste oder halbfeste unter a), b) oder c) angegebene Komponente zu verwenden, insbesondere wird jedoch eine unter c) angegebene Komponente gebraucht. Kolloidale Kieselsäure, Zucker und mikrokristalline Zellulose sind geeignete Zusätze.

Die Eigenschaften der gemäss der vorliegenden Erfindung erhaltenen Zusammensetzung können auf an sich bekannte Weise bestimmt werden. Die Stabilität der Lösungen, insbesondere gegen Auskristallisation des Wirkstoffes, kann unter Verwendung bekannter Tests festgestellt werden. Die Verträglichkeit der Injektionsformen kann durch Beobachtung des Ausmasses der Blutung und der Entzündung nach der Injektion, beispielsweise in die Schenkel von Kaninchen und Rhesusaffen, sowie der Zeit, die benötigt wird, um diese zu heilen, festgestellt werden. Überdies können andere bekannte Verträglichkeitstests angewendet werden.

Die Absorption des Cyclosporins, insbesondere der rasche Eintritt einer zufriedenstellenden Konzentration des Cyclosporins im Blut und die hohe totale Absorption des Cyclosporins während 24 Stunden, wird unter Verwendung von Standard-Tests festgestellt.

In einem Test wird eine pharmazeutische Zusammensetzung gemäss der vorliegenden Erfindung Kaninchen, Ratten, Hunden oder Rhesusaffen oral, intramuskulär oder subcutan in einer Dosis von 2-600 mg des Cyclosporins pro kg Tiergewicht verabreicht. Blutserumproben und Urinproben werden in gleichmässigen Zeitabständen entnommen, bei-

*This Page Blank (uspto)*

spielsweise jede Stunde, und die darin enthaltene Cyclosporinkonzentration wird auf an sich bekannte Weise festgestellt.

Die pharmakodynamische Aktivität des Cyclosporins kann auf an sich bekannte Weise festgestellt werden. Im Falle von Cyclosporin A kann die Wirkung des Peptids durch Hemmung der Lymphozytenproliferation festgestellt werden. Hierfür wird das Blutserum in regelmässigen Zeitabständen nach Verabreichung der Substanz gesammelt und in einer Konzentration von 0,3 bis 10% in vitro einer Milzzellsuspension der Maus zugesetzt, worin die Lymphozytenproliferation durch Concanavallin A über eine 72stündige Kultivierungsperiode ausgelöst wird.  $^3\text{H}$ -Thymidin wird anschliessend zugesetzt und nach 24 Stunden der Thymidineinbau zur Feststellung der Lymphozytenproliferation gemessen.

Falls erwünscht, kann das Cyclosporin in radioaktiver Form verabreicht werden. Beispielsweise können in einem Experiment 100 mg  $^3\text{H}$ -markiertes Cyclosporin A (hergestellt durch Fermentierung des bekannten Pilzstammes *Tolypocladium inflatum* Gams NRRL 8044 in Gegenwart von in der  $\text{SCH}_3$ -Gruppe mit Tritium markiertem Methionin), das sich in Form einer Trinklösung befindet, männlichen Beagle-Hunden oral verabreicht werden. Blutproben werden jedem Hund 15 Minuten nach Verabreichung bis zu einer Stunde nach Verabreichung entnommen und anschliessend jede Stunde bis zu 8 Stunden nach Verabreichung. Der Urin wird ebenfalls gesammelt. Die Bestimmung der Radioaktivität im Blut und im Urin gibt die Pepsidabsorption an.

Die Menge des in der pharmazeutischen Zusammensetzung gemäss der vorliegenden Erfindung zu verabreichenden Cyclosporins hängt natürlich von der Art der Verabreichung, dem gewünschten Effekt und den Behandlungsbedingungen ab.

Im allgemeinen wird der Anteil des mit Hilfe der pharmazeutischen Zusammensetzung gemäss der vorliegenden Erfindung verabreichten Cyclosporins in der gleichen Grössenordnung sein wie des auf einem anderen Weg verabreichten Cyclosporins.

Die zur Erreichung einer therapeutischen Wirkung benötigten Mengen sind bekannt. Falls man Zusammensetzungen gemäss der vorliegenden Erfindung verwendet, soll eine tägliche Dosis von 3 mg/kg bis 50 mg/kg an Cyclosporinen zur Behandlung chronischer Entzündungen und zur Erzielung eines immunsuppressiven Effektes verabreicht werden.

Das nachfolgende Beispiel beschreibt die Erfindung. Alle Temperaturangaben sind in Grad-Celsius angegeben.

#### Beispiel I Trinklösung

200 mg Cyclosporin A werden direkt unter Rühren in 1 ml Gemisch von Labrafil M 1944 CS und Äthanol (im Verhältnis 40 : 15) bei 25° gelöst und nach Zusatz von 0,4 ml Olivenöl oder Maisöl die erhaltene Lösung filtriert und in Fläschchen abgefüllt.

Die Lösung enthält für 10 Gewichtsteile Labrafil 3 Gewichtsteile Cyclosporin A, 3 Gewichtsteile Äthanol und 5 Gewichtsteile Oliven- oder Maisöl.

(28)

*This Page Blank (uspto)*



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

**This Page Blank (uspto)**